

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

**E. A. P. DE ODONTOLOGÍA**

**Efectividad antibacteriana in vitro de una infusión a  
base de *Camelia sinensis* y *Minthostachys mollis* sobre  
flora salival mixta**

**TESIS**

para optar el título de Cirujano Dentista

**AUTOR**

Ney Alberto Paredes Sampen

**ASESORA**

Hilda Moromi Nakata

**Lima-Perú**

**2009**

## *Dedicado a:*

*Al Padre y Rey de los cielos por brindarme la oportunidad de vivir y aprender cada día un poco más.*

*A mi familia por ser la forjadora de mis principios y estilo de vida, por su cariño y afecto incondicional.*

*La Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por abrirme sus puertas para poder llevar a cabo la carrera de Odontología; a los doctores que laboran ahí, quienes muchas veces asumieron el rol de profesor y amigo; a sus trabajadores e igualmente a mis compañeros de estudios quienes con su tiempo y amistad contribuyeron a que mi formación universitaria sea una experiencia inolvidable.*

*A la Biol. Mg Ad Ed Hilda Moromi Nakata por su tiempo, aporte de conocimientos y colaboración desinteresada así como también por su motivación para la realización del presente estudio.*

*a mi persona por ser este el fruto de mi  
esfuerzo y dedicación.*

*y a todas aquellas personas que contribuyeron en la realización del presente estudio.*

## Tabla de contenido

I. INTRODUCCIÓN.....	pág 4
II.- MARCO TEÓRICO.....	pág 6
2.1.- ANTECEDENTES.....	pág 6
2.2.- BASES TEORICAS.....	pág 12
2.3.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	pág 39
2.4.- JUSTIFICACIÓN.....	pág 39
2.5 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.....	pág 40
2.5.1.- OBJETIVO GENERAL.....	pág 40
2.5.2.- OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	pág 40
2.6.- HIPÓTESIS.....	pág 40
III MATERIALES Y METODOS.....	pág 41
3.1 TIPO DE ESTUDIO.....	pág 41
3.2.- POBLACIÓN Y MUESTRA.....	pág 41
3.3.- OPERACIONALIZACION DE VARIABLES.....	pág 42
3.4. MATERIALES Y METODOS.....	pág 43
3.4.1. PROCEDIMIENTOS Y TECNICAS.....	pág 43
3.4.2. RECOLECCIÓN DE DATOS.....	pág 44
IV.- RESULTADOS.....	pág 45
V. DISCUSIÓN.....	pág 47
VI. CONCLUSIONES.....	pág 50
VII. RECOMENDACIONES.....	pág 51

VIII. BIBLIOGRAFIA.....	pág 52
IX. ANEXOS.....	pág 61
X. RESUMEN.....	pág 71

## RESUMEN

Con el objetivo de determinar la efectividad antibacteriana in vitro de una infusión a base de *Camelia sinensis* y *Minthostachys mollis* sobre flora salival mixta, se recolectó saliva no estimulada de 30 estudiantes universitarios y se sembró en el medio Agar Tripticasa soya. Utilizándose el método de difusión por discos para las soluciones de té verde, muña, té verde y muña, y los controles positivo (Clorhexidina) y negativo (Agua destilada), las placas se incubaron a 37° C / 24 horas.

El análisis estadístico determinó la efectividad antibacteriana de las infusiones a base de té verde, y té verde y muña, no encontrando efectividad en la infusión a base de muña, y que existían diferencias significativas entre las medias de las muestras. Así mismo, la infusión a base de té verde resultó ser similar en cuanto a su efectividad antibacteriana con respecto a la clorhexidina.

De los resultados obtenidos se concluye que se ha evidenciado la efectividad antibacteriana de una infusión a base de té verde y muña sobre la flora salival mixta, sin embargo, se observó una efectividad antibacteriana menor con respecto a la infusión a base de té verde y la clorhexidina.

Debido a los resultados del presente estudio que demuestran la efectividad del té verde similar a la clorhexidina, es necesario la continuación de estudios in vivo para comprobar dicho hallazgo y promover su uso como enjuagatorio bucal, así como estudios de asociación de infusión de té verde con aceite esencial de muña o con infusión de muña a mayor concentración.

In order to determine the antibacterial effect in vitro of an infusion of *Camellia sinensis* and *Minthostachys mollis* on mixed salivary microflora we recolected not stimulated saliva of 30 university and cultivated them in Trypticase soy Agar using Assay disk diffusion for infusions of green tea, muña, green tea and muña Clorhexidine, as a positive control group, and distilled water as a negative control group, plates were incubated at 37 ° C / 24 hours.

The statistical analysis determined the antibacterial effect of green tea and green tea and muña, no effect on the infusion of muña, and significant differences between medias of the samples. Then, it was found the infusion of green tea is similar in terms of their antibacterial effectiveness with respect to chlorhexidine.

From the results it is concluded that it has been shown the antibacterial effect of infusion of green tea and muña on mixed salivary flora, however, showed a lower antibacterial effect with respect to the infusion of green tea and with the chlorhexidine.

Because the results of this study demonstrate a similar effectiveness among green tea and chlorhexidine, it is necessary to continue with in vivo studies to verify this finding and promoting their use as oral mouthrinses and, association studies of green tea infusion with essential oil of muña or infusion of muña in higher concentrations.

## **I.- INTRODUCCIÓN**

El hombre, a lo largo de su historia hasta el presente, ha estado estrechamente ligado con las plantas medicinales para la curación de sus males y dolencias. La fitoterapia es una práctica usada desde la antigüedad; inclusive, miles de años antes de Cristo ya se hablaba de ella según se registra en el Papiro de Ebers (1500 a. C.). Actualmente, las investigaciones realizadas con hierbas, generalmente confirman los usos tradicionales de las plantas, ofreciendo a los investigadores la convicción de que hay mucho que aprender de las costumbres populares. Un análisis científico de las especies de uso popular propició que la Fitoterapia se aproximara a la Aloterapia, de tal forma que actualmente 80% de la medicación vendida en Alemania es elaborada con fitoterápicos.

Debido a ello estos estudios se han venido intensificando en los últimos años lo que ha permitido identificar y aislar los principios activos responsables de su actividad farmacológica dando lugar a variadas presentaciones avalando razonablemente su utilización.

Por ello, tanto a nivel mundial como nacional, muchas plantas luego de ser estudiadas ingresan al arsenal terapéutico ya sea favoreciendo la digestión, como anticonceptivos, analgésicos, cicatrizantes, anti-inflamatorios y antimicrobianos.

En el campo de la práctica odontológica, estas plantas han tenido todo tipo de uso, en especial en la parte preventiva como aditivos en los diversos productos

de higiene oral con propiedades contra la halitosis, anti-inflamatorios y antibacterianos y es sobre todo en esta última característica en que se han visto empíricamente y determinado metodológicamente. Sin embargo debido a la biodiversidad mucha de estas plantas no se han estudiado o recién se están empezando a estudiar, especialmente en nuestro país. Una de tales plantas es la *Camelia sinensis*, planta natural del Asia, cultivada en muchos países del mundo debido a su alto contenido de polifenoles, confiriéndole un amplio espectro antiviral, antibacteriano y anticancerígeno. Estos conocimientos han propiciado la adición de los extractos en algunas pastas dentales, es por ello que en los últimos años se han incrementado los estudios sobre el té verde y se concluye que los extractos matan bacterias y por sus características ya pueden ser incluidas dentro del arsenal de higiene oral.

Así mismo, en nuestro país contamos con la *Minthostachys mollis*, que ha demostrado efectos sobre una serie de microorganismos y concretamente contra bacterias como *Shiguella dysenteriae*, *Salmonella typhi* y *Escherichia coli*. A nivel oral, el aceite esencial ha demostrado tener propiedades antibacterianas in vitro contra las bacterias orales estandarizadas, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* sp. *Fusobacterium nucleatum*, *Actinobacillus actinomicentecomitans* y *Actinomyces* sp.

Así, en el presente estudio, se evaluó la efectividad antimicrobiana in vitro de una infusión a base de *Camelia sinensis* con *Minthostachys mollis* sobre flora mixta salival con el propósito de determinar si existe sinergismo o antagonismo entre ambas plantas a fin de realizar posteriores estudios in vivo para incluirlas en conjunto como colutorio o pasta dental.



## II.- MARCO TEÓRICO

### 2.1.- ANTECEDENTES.

**Moromi H. y col. (2007)**, determinaron el efecto antibacteriano in vitro de soluciones de *Camelia sinensis* (té verde) de cuatro marcas comerciales, recolectando saliva no estimulada de 40 estudiantes universitarios y sembrándolas en el medio de Agar Trypticase Soya. Para ello utilizaron el método de difusión por discos para las soluciones de té y controles positivos (Amoxicilina) y negativo (agua destilada) evidenciando acción antibacteriana para la cepa de *S. mutans* así como para la microflora mixta salival, existiendo diferencias en la acción dependiendo de la marca utilizada. <sup>(1)</sup>

**Moromi H. y col. (2007)**, realizaron un estudio sobre el efecto antimicrobiano in vivo de la infusión de *Camelia sinensis* en forma de colutorio al 10% colectando saliva no estimulada de 32 personas aparentemente sanas a) antes del enjuague b) inmediatamente después y c) a los 30 minutos, sembrándose en Agar Trypticase Soya y Agar Mitis Salivarius Bacitracina; para luego proceder al recuento de unidades formadoras de colonias de *Streptococcus mutans* por ml. <sup>(2)</sup>

**Moromi H. y col. (2006)**, observaron el efecto de la infusión del té verde al 10 % en la formación de placa bacteriana por *Streptococcus mutans* ATCC 25175, realizando cultivos sucesivos cada 24 horas, hasta los 7 días, en caldo

sacarosa al 5 %. Sus resultados mostraron una notoria disminución y falta de adherencia en la formación de la placa en el alambre de nichrome de los cultivos con infusión de té verde en relación al cultivo control. <sup>(3)</sup>

**Cano C. y col. (2006)**, determinaron mediante el método de agar difusión, la actividad antimicótica del aceite esencial de la muña frente a las cepas de *Candida albicans* y por el método de dilución en tubo la inhibición del crecimiento fúngico de *Trichophyton mentagophytus*, *Microsporum canis*. Los diámetros de la prueba de difusión en agar de *Candida albicans* fueron de 30 mm. al 100 % del aceite esencial de muña y 35 mm. al 50 % del aceite esencial de muña. <sup>(4)</sup>

**Hirasawa M. y col. (2006)**, determinaron que los valores de pH de muestras de placa de 15 voluntarios fueron significativamente mayores después de tratamiento con epigallocatequina (una de las catequinas del té) que después de tratamiento con agua. Estos resultados sugieren que EGCg es efectiva en reducir la producción de ácido en placa dental y *Streptococcus mutans*. <sup>(5)</sup>

**Díaz K. y col. (2005)**, determinaron la acción antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) enfrentando cepas estándares ATCC de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus sp.*, *Fusobacterium nucleatum*, *Actinobacillus actinomicentecomitans* y *Actinomyces sp.* a Amoxicilina, aceite esencial de *Minthostachys mollis* y agua destilada para medir los halos de acción antimicrobiana encontrándose que la *Minthostachys mollis* tiene efectos antimicrobianos sobre las bacterias orales con una media de 16,75 mm. de diámetro del halo. <sup>(6)</sup>

**Barreto L. y col. (2004)**, realizaron un estudio sobre el potencial antimicrobiano in vitro de 7 dentríficos conteniendo fitoterápicos sobre bacterias orales recuperadas de saliva y cepas patrón *S. mutans*, *S. sanguis* y *L. casei*. Para ello fueron obtenidas soluciones concentradas de los dentríficos evaluados y de controles mezclándose 3 gramos de cada uno con 10 ml. de agua desionizada estéril, seguido de centrifugación; los sobrenadantes resultantes fueron diluidos en proporciones de 1:2 hasta 1:32. Se constató que solamente las soluciones puras de los dentríficos presentaron capacidad antimicrobiana contra cepas patrón, equivalente a la del dentífrico con triclosan, excepto el Gessy Cristal. Además los dentríficos diluidos a 1:2 presentaron acción antimicrobiana contra las bacterias orales recuperadas de la saliva, excepto el Parodontax. <sup>(7)</sup>

**Herrera y col. (2003)**, compararon la actividad antimicrobiana, tanto in vitro como in vivo, de las diferentes formulaciones de colutorios con clorhexidina al 0,12 %. Los resultados demostraron que la formulación de clorhexidina con alcohol, tenía más actividad antimicrobiana que los que carecían de ella; con excepción del colutorio que contenía clorhexidina y cloruro de cetilpiridinio, la cual demostró su superioridad. <sup>(8)</sup>

**Fuertes C. y col. (2001)**, realizaron un estudio comparativo del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb “Muña” de tres regiones peruanas por cromatografía de gases y espectrofotómetro de masas. <sup>(9)</sup>

**Primo V. y col. (2001)**, observaron buena actividad antibacteriana de *Minthostachys verticillata* “Peperina” contra *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli*, *P. mirabilis* y antiviral contra el virus Herpes Simplex Tipo 1 y el virus de la Pseudorrabia, aunque con escasa actividad frente a *P. aeruginosa*.<sup>(10)</sup>

**Gálvez C. y Mendoza R. (2001)**, realizaron un estudio sobre la capacidad bactericida de pastas experimentales Anti-A a base de sábila, uña de gato y sangre de grado puros y asociados. Se aislaron 8 tipos de bacterias más frecuentes provenientes de frotises gingivales: 7 aeróbicas: *Propionibacterium*, *Actinomyces*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, *Laemolytirus*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus salivarius* y *Eikenella*; 1 aeróbica: *Veillonella*, las cuales fueron sensibilizadas en un medio de difusión agar con 8 diferentes tipos de pastas experimentales, entre puros y asociados. Luego de 72 horas de inoculación la pasta a base de sangre de grado tuvo mejor comportamiento antimicrobiano que las otras, tanto mejor si han sido elaborados extractos puros, produciendo mayor halo de inhibición frente a la *Eikenella* seguida del *Lactobacillus*.<sup>(11)</sup>

**Lahoud V. y col. (2001)**, demostraron las ventajas terapéuticas de la ampicilina 500 mg. asociada con extracto liofilizado de *Uncaria tomentosa* (Uña de Gato) 45 mg. en comparación con la administración de ampicilina 500 mg. y un antiinflamatorio a base de piroxican en pacientes con procesos infecciosos agudos en cavidad oral.<sup>(12)</sup>

**Inga A. y Guerra B. (2000)**, demostraron mediante un estudio las propiedades bactericidas/bacteriostáticas del aceite esencial de *Minthostachys mollis* frente *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *B. cereus* MC, *Salmonella Typhi*, *S. sonnei* MC, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *K. pneumoniae* ATCC 10031, además de la acción fungistático/fungicida para *Fusarium moniliforme* y *Aspergillus niger*.<sup>(13)</sup>

**Lahoud V. y col. (2000)**, determinaron que el tratamiento con Uña de Gato provocó una cicatrización de la herida pulpar acelerada y con abundante colágeno y capilares neoformados; frente al tratamiento con Dycal (hidróxido de calcio) que provocó cicatrización más lenta y moderada, con regular cantidad de colágeno y capilares neoformados. Se observó mínima inflamación pulpar en todos los casos tratados con Dycal (hidróxido de calcio) y Uña de Gato<sup>(14)</sup>

**Fuertes C. y col. (1999)**, estudiaron la composición química del aceite volátil de *Ocimum micranthum* Wild por medios cromatográficos y espectroscópicos obteniendo como componente principal al metil eugenol (52,20 %). Además demostraron la actividad antibacteriana frente a microorganismos (mayor sensibilidad frente a hongos), mediante el método de excavación placa-cultivo frente a diferentes bacterias y hongos tales como: *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Shiguella* sp., *Apergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* y *Penicillum* sp.<sup>(15)</sup>

**Poblete E. (1998)** demostró que el aceite esencial de muña tiene efecto contra *Phylohtora infestans*, *Fusarium solanaceum* y *Erwinea carotovora* que son patógenos de la papa. <sup>(16)</sup>

**Eldrige K. y col. (1998)**, demostraron que el enjuagatorio de clorhexidina al 0,12 % sin alcohol usado por un periodo de 21 días, es un antimicrobiano eficaz en la reducción de *Streptococcus mutans*, además que presenta menos efectos adversos que el enjuagatorio de clorhexidina que contienen alcohol, el mismo que está contraindicado en pacientes con mucositis, inmunocomprometidos, sensibles al alcohol y con restauraciones de resina. <sup>(17)</sup>

**Rasheed A, Haider M. (1998)** observaron que extractos del té verde inhibían mejor a *Escherichia coli*, *Streptococcus mutans* y *Streptococcus salivarius* que extractos del té negro comparando estos resultados con amoxicilina, cefradina y eugenol. <sup>(18)</sup>

**Salmón L. (1994)** estudió los aspectos fitoquímicos, toxicológicos, antimicrobianos y bromatológicos de *Minthostachys mollis*. No obtuvo halos de inhibición a ninguna concentración y en ninguna cepa. (*Candida albicans* ATCC 10231, *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538) por lo que no pudo determinar fehacientemente su actividad antimicrobiana. <sup>(19)</sup>

**Contreras G. (1983)** estudió la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis*, demostrando cualitativamente su efecto antimicrobiano

frente a *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhi* y *E. coli*, resultando *Shigella dysenteriae* la mas sensible al aceite esencial de Muña. <sup>(20)</sup>

## **2.2.- BASES TEÓRICAS**

### **2.2.1. Plantas Medicinales**

El empleo de plantas como tratamiento de diversos males, se registra desde tiempos muy remotos, basándose en creencias populares y conocimientos tradicionales, transmitidos de generación en generación. Hoy en día, muchas propiedades terapéuticas de diversas plantas han sido demostradas científicamente, en base a la extracción de sus principios activos, con diversas actividades biológicas. <sup>(18, 21, 22)</sup>

Las propiedades antimicrobianas encontradas en algunas plantas se explican por las sustancias terpenoides presentes en la fracción de aceite esencial extraída. <sup>(21)</sup> También existen reportes de actividad antiinflamatoria e inmunomoduladora de los aceites de diversas plantas. <sup>(21, 23)</sup>

#### **2.2.1.1 *Camelia sinensis*, “Té verde”**

El té es un producto elaborado de la hoja y brotes de la planta *Camelia sinensis*. Es la segunda bebida más consumida en el mundo después del agua, muy por encima del café, la cerveza, el vino y bebidas gaseosas. <sup>(24,25)</sup> Originaria de China, el té ha ganado su espacio en sabor alrededor del mundo en los últimos 2000 años. Los intereses económicos y sociales por el té son claros y su consumo es parte de la rutina diaria de muchas personas, como una bebida de todos los días y como ayuda terapéutica en muchas enfermedades. <sup>(26)</sup>

#### **2.2.1.1.1 Características del Género *Camelia*:**

Planta, de origen asiático, introducida al continente americano a finales del siglo XVIII donde adquirió el nombre de "Chinesse Tea". En los estados del sur de Estados Unidos de América obtuvo gran popularidad y demanda ya que sus colores blancos, rojos y rosados soportaban y llenaban de vida el caluroso ambiente de la Louisiana y la Florida.

El nombre *Camelia* se acredita al misionero jesuita George Josef Kamel quien estudiara esta planta en las Filipinas donde realizó diversas investigaciones para conocer su utilidad, ya que la flor aparte de su belleza era usada por los asiáticos como té. Sus flores de consistencia cerosa miden de cuatro a quince centímetros y pueden presentarse en formas sencillas o dobles, dentro de uno o varios tallos que varían en longitud y grueso, el arbusto es perenne y la flor únicamente puede encontrarse en los meses de primavera, sus hojas no obstante pueden usarse a lo largo de todo el año como follaje. <sup>(27)</sup>

#### **2.2.1.1.2 Características botánicas del Género en estudio:**

La camelia es la flor de un arbusto originario de Asia, concretamente de Japón y China. Pertenece a la familia de las teáceas y las distintas variedades componen el género *Camelia*. Hay gran cantidad de camelias diferentes, algunas espontáneas y otras obtenidas por hibridación.

Es un arbusto perennifolio, de hojas verde intenso y brillante y flores blancas, rosas o rojas de entre tres y cinco centímetros de diámetro. Existen variedades tempranas, de floración invernal y otras que florecen en primavera. Todas ellas son acidófilas por lo que necesitan un sustrato con pH ácido. <sup>(27,28)</sup>



#### **2.2.1.1.3 Aspecto botánico de la especie en estudio:**

Aunque originario de los bosques montañosos situados en los límites de India y China, el té (*Camelia sinensis L.*), se cultiva hoy en los cinco continentes. A partir de sus brotes y hojas se obtienen diversos tipos: té negro, verde, rojo y blanco. La región talera argentina, concentrada en las provincias de Misiones y Corrientes, es la más austral del mundo. El destino principal de su producción es la exportación, flujo comercial que en 2005 representó ingresos superiores a los 45,2 millones de dólares, y para el año en curso también presenta perspectivas favorables.

El té presenta follaje perenne, flores blancas y fruto capsular. Florece en primavera y fructifica en verano – otoño. En estado silvestre puede alcanzar hasta 10 o 15 metros de altura, pero la planta bajo cultivo es podada para limitar su porte, favoreciendo así la generación de nuevos brotes y hojas y facilitando la cosecha.

Se cultiva con éxito desde el nivel del mar hasta los 2.200 metros de altitud, obteniéndose producciones de alta calidad en las zonas de alturas superiores a los 1.200 metros. El clima óptimo para la especie es el subtropical húmedo, isohídrico, con precipitaciones entre 1.800 y 2.200 mm anuales y suelos con pH ácido (4,5 - 5,5) bien drenados.

El té se comercializa en lotes que se usan en mezclas -o "blends"- para mantener las características de cada marca comercial a lo largo del tiempo. Así, un lote puede aportar poco en cuanto a sabor pero dar un excelente color, otro en cambio puede tener color tenue pero un exquisito aroma. Las empresas realizan los blends apropiados, apuntando a satisfacer el mercado a que se dirige el producto. Es un arbusto o pequeño árbol perenne que normalmente se

recorta para que no sobrepase los 2 m. cuando se cultiva por las hojas. Posee una fuerte raíz principal. Las flores son blanco-amarillentas y miden entre 2 y 4 cm. de diámetro, con 7 u 8 pétalos. Las semillas prensadas destilan un aceite. De esta especie se elabora el té verde, semi-fermentado y té negro, que se procesa para obtener diferentes grados de oxidación.

Las hojas tienen entre 4 y 15 cm. de largas por 2 a 5 cm. de anchas. Contienen alrededor de un 4% de cafeína. Las características y diferente composición química de las hojas recolectadas, según la edad, producen diferentes tipos de té. Las hojas más viejas son de color verde oscuro. Las tiernas, de color verde pálido y con una corta pubescencia blanca en el envés son las preferidas.

La variedad más utilizada es la *Assam* (a veces llamada *C. sinensis assamica* o *C. assamica*) y la planta de China (llamada *C. sinensis sinensis*), así como varios cruces de estas dos.<sup>(27,28)</sup>

A partir de la misma materia prima: brotes y hojas de la especie *Camelia sinensis*, se obtienen diversos tipos de té. Estos productos finales pueden ser distintos según las variedades botánicas utilizadas, las formas de cultivo, la época y tipo de cosecha, así como del método de industrialización empleado. Los productos se clasifican según el color del material de la infusión generada, y según el grado de fermentación. Existen cuatro tipos principales de té con múltiples variedades que dan lugar a más de 3000 clases de té en todo el mundo:

- Té Negro. Resultado de una fermentación (en realidad es un proceso de oxidación) completa. Es el producto que presenta mayores propiedades aromáticas. Su alto contenido en flavonoides protege al sistema cardiovascular. Representa la mayoría de la producción nacional.

- Té Rojo. Fermentación incompleta. Con un grado de 50-60 % de fermentación se denomina Oolong, mientras que con 8 - 25 % se designa Pouchong. Luego del secado de hojas y yemas se aplica un tratamiento térmico para inactivar las enzimas y detener la fermentación en el momento adecuado y además quitarle humedad para evitar la descomposición posterior de las hojas. Presenta propiedades antioxidantes, efectos protectores del sistema cardiovascular, y es utilizado en los tratamientos contra la obesidad. También se le atribuyen propiedades anticancerígenas. Es tradicional en China, Japón y Taiwán, pero en Argentina prácticamente no se produce.
- Té Verde. Carece de fermentación. Se evita la acción enzimática de la fermentación mediante un escaldado. Presenta elevadas cantidades de antioxidantes, colabora con la nivelación de la insulina en sangre y con la disminución de la grasa corporal. Disminuye el nivel de triglicéridos y colesterol.
- Té Blanco. También carece de fermentación. Producido a partir de yemas nuevas recolectadas antes de que abran. Se dejan marchitar para que se evapore la humedad y se desecan. Su principal propiedad es el elevado contenido de antioxidantes. <sup>(29)</sup>

#### **2.2.1.1.4 Usos y Aplicaciones de la especie *Camelia sinensis*:**

El té verde ha sido considerado una medicina y bebida curativa desde tiempos antiguos.

La Medicina Tradicional China la ha recomendado para dolores de cabeza y de cuerpo, digestión, depresión, desintoxicador, como energizante y, en general, para prolongar la vida. Las hojas del té verde contienen 3 principales componentes que actúan en beneficio de la salud humana: bases xánticas (cafeína y teofilina), aceites esenciales y especialmente, componentes polifenólicos. La cafeína actúa principalmente sobre el sistema nervioso central, estimulando la vigilia, facilitando asociación de ideas y disminuyendo la sensación de fatiga.<sup>(30)</sup> Algunos de los efectos ocasionados por la cafeína son influenciados por la teofilina. La teofilina induce actividad psicoactiva, además posee un leve efecto inotrópico y vasodilatador, y un efecto diurético mayor que la cafeína. Sin embargo, sus efectos más interesantes pueden ser vistos a nivel respiratorio y broncopulmonar. La teofilina causa una relajación no específica en el músculo bronquial y la estimulación respiratoria también es observada. Aceites esenciales son volátiles y se evaporan de la bebida después de algo de tiempo, por ello no es muy conveniente sobre extender el tiempo de filtración. Entre sus propiedades, la de facilitar la digestión debe ser resaltada<sup>(31, 32)</sup>. El té verde es el tipo de té con el mayor porcentaje de aceites esenciales<sup>(30, 32)</sup>. Sin embargo, el té verde ha recibido gran atención debido a su contenido en polifenoles, que son fuertes antioxidantes y presentan importantes propiedades biológicas. Numerosos han demostrado también que el extracto acuoso de epigallocatequinas (GTP) posee propiedades antimutagénicas, antidiabéticas antibacterianas, antiinflamatorias e hipocolesterolémicas<sup>(33, 34, 35)</sup>. Efectos beneficiosos sobre enfermedades orales como protección contra la caries, enfermedad periodontal y pérdida de dientes (que afecta significativamente la

salud completa de la persona) también han sido descritos <sup>(31)</sup>. Entre todas las epigallocatequinas (GTP), las catequinas y ácidos gálicos han sido especialmente considerados como los verdaderos intervinientes en los efectos beneficiosos en salud que se mencionan a continuación:

- Actividad antioxidante <sup>(36, 37, 38)</sup>
- Potencial antimutagénico y anticarcinogénico. <sup>(39,40, 41)</sup>
- Efecto antihipertensivo y riesgo de enfermedad cardiovascular. <sup>(42, 43)</sup>
- Protección solar ultravioleta <sup>(44,45)</sup>
- Suplemento de insulina <sup>(45,46,47)</sup>
- Salud oral.

Con respecto a la salud oral, la caries dental es una enfermedad infecciosa multifactorial en la cual la nutrición, la infección microbiológica y la respuesta del hospedero juegan roles importantes. Últimos reportes experimentales en animales y humanos sugieren que el consumo de té verde (sin añadir azúcar) reduce la caries dental <sup>(31, 48, 49)</sup>.

Linke y LeGeros <sup>(50)</sup> indicaron que el consumo frecuente de té verde puede disminuir significativamente la formación de caries, aún con la presencia de azúcares en la dieta. Estudios in vivo en animales han demostrado que ratas específicas libres de patógenos infectados con *Streptococcus mutans* y luego alimentados con una dieta cariogénica conteniendo GTP han disminuido significativamente sus niveles de caries <sup>(51)</sup>. Bebidas de suplemento conteniendo 0.1 % de GTP dentro con dieta cariogénica disminuyó también significativamente lesiones cariosas en fisuras <sup>(31)</sup>. Estudios recientes de Okamoto *et al.* <sup>(52)</sup> sugieren que las catequinas presentes en el té verde tienen potencial para reducir el daño periodontal resultante de la potente actividad de

la proteinasa de *Porphyromonas gingivalis*. Así también, decocciones de té verde inhiben la  $\alpha$ -amilasa en saliva humana, reduciendo la liberación de maltosa en un 70 % y disminuyendo efectivamente el potencial cariogénico de almidón contenido en comida. <sup>(29)</sup>

Similarmente, Zhang y Kashket <sup>(53)</sup> reportaron que extractos del té verde inhiben amilasa salival humana y reducirían el potencial cariogénico de almidón contenido en comidas como en galletas y tortas reducirían la tendencia de este tipo de comidas a pequeñas fuentes de liberación de carbohidrato fermentado. Es probable que la competencia cariogénica en una dieta cariogénica podría ser reducida por la presencia simultánea de té verde en la dieta

Aparte de sus contenidos en polifenoles, ambos el té verde y el negro son una fuente natural de fluoruro y un vehículo efectivo para este a la cavidad oral. De acuerdo a Simpson *et al.* <sup>(54)</sup>, después de la limpieza de la boca con té, aproximadamente el 34 % de el fluoruro es retenido y muestra una fuerte habilidad de unión a interactuar con los tejidos orales y en la superficie de los sus tegumentos. Este contenido en fluoruro tendría un impacto beneficioso sobre la caries y podría llevar a cabo un amplio rango de actividades incluyendo prevención en pérdida de dientes y en cáncer oral. <sup>(52, 55)</sup>. Sin embargo, la información ha sugerido que el extracto de epigallocatequinas sería el responsable para los efectos más notorios en salud oral y también ha sido demostrado que GTP más que el fluoruro contribuye al potencial anticariogénico <sup>(31,51)</sup> por inhibición de crecimiento de bacterias como la *Escherichia coli*, *Streptococcus salivarius*, y *Streptococcus mutans*. Muchos estudios han indicado que el GTP inhibe el crecimiento, producción de ácidos, metabolismo, y actividad de la enzima glucosiltransferasa del *S. mutans* y la

placa dental <sup>(31)</sup>. En consecuencia, el té verde ha sido considerado como comida funcional para salud oral y es ampliamente usado en formulaciones de pastas dentales.

#### **2.2.1.2 *Minthostachys mollis*, “Muña”**

*Minthostachys mollis*, nombre científico de la muña, planta nativa que crece en diversas zonas de la serranía peruana. <sup>(22)</sup>

Otros nombres vulgares con los que se conoce a esta planta son:

‘Muña negra’, ‘polvo silvestres’, ‘coz’, ‘muña-muña’, ‘huycha’, ‘arash muña’, ‘kon’, ‘orcco-muña’ <sup>(56)</sup>

##### **2.2.1.2.1 Características del Genero *Minthostachys***

La ‘Muña’, planta oriunda de los valles andinos del Perú y Bolivia, cuya especies pertenecen a la familia de las *Labiadas* o *Lamiaceas*, genero *Minthostachys*. <sup>(13)</sup>

Son arbustos aromáticos ampliamente extendidos en las zonas andinas trepadores o de ramas amplias con flores pequeñas dispuestas de forma variada. Las brácteas algunas veces son foliáceas. El cáliz es tubular con 13 inervaciones, con 5 dientes de forma deltoidea angosta y el cuello es velludo-anillado. La corola es de forma tubular, a veces con 6 mm. de longitud con 2 lóbulos altos y 3 bajos. Presenta estambres pequeños a la mitad del tubo corolar, en su mayoría un poco por debajo de la corola. <sup>(19)</sup>

Se pueden encontrar entre 2500 a 3500 m.s.n.m., crecen en forma abundante y silvestre en los valles de la sierra central peruana, en lugares aledaños a las acequias, no presentando requerimientos tan intensos por el agua por lo que

pueden desarrollarse en las laderas de los cerros. Se distribuye mayormente en el sur del Perú: Cuzco, Puno, Ayacucho, Apurímac entre 2700 a 3600 msnm. <sup>(56,57)</sup>

Según Munguia Y. se puede encontrar muña a lo largo de la costa y la cordillera andina de 500 a 3500 m.s.n.m. distribuida desde Colombia, Venezuela, Brasil, Ecuador, Perú, Bolivia y Argentina. <sup>(58)</sup>

De este genero existen 12 especies, de las cuales, 6 han sido reconocidos en el Perú, siendo una de las mas importantes *Minthostachys mollis*. <sup>(59)</sup>, *M. Glabresans*, *M. Setosa*, *M. Spicata*, *M. Griseb* y *M. Salicifolia*, todas generalizadas con el nombre local de muña. <sup>(19)</sup>

#### **2.2.1.2.2 Características botánicas del Género en estudio:**

La muña es un arbusto que alcanza una altura de 0,9 a 1,5 metros, siendo bien tupido en hojas, las mismas que son opuestas y aserradas. Peciolas, presentando pelos en los peciolas y en la cara inferior de las hojas, en las cuales se deposita la mayor cantidad de esencia. El tallo que también presenta pelos, tiene forma prismática, cuadrilátero y propenso a la lignificación. Las flores se encuentran en la parte superior de las ramas reunidas en verticilos falsos.

Las flores son actinomorfas con cáliz y corola pentámera, androceo y 4 estambres, gineceo súpero formado por 4 lóbulos y un estilo bifido, semillas de 0,5 a 1 mm. de largo y de color marrón. <sup>(16)</sup>



### **2.2.1.2.3 Aspecto botánico de la especie en estudio**

Perteneciente a la familia de las *Lamiaceas* o *Lamiaceae*, constituida por 300 especies distribuidas en 200 géneros de plantas herbáceas como la menta, hierba buena, matitas como tomillo o arbustos como romero. Muchas de estas especies producen aceites esenciales de manera tan preferente que pueden considerarse plantas aromáticas por excelencia, usadas en la medicina tradicional, industria farmacéutica y perfumería. <sup>(58)</sup>

Esta familia comprende plantas arbustivas, perennes, de olor característico y llegan a tener aproximadamente 1,5 metros de altura. Los tallos son semileñosos, cuadrangulares, angulosos y muy pubescentes, con abundantes pelos glandulosos y pelos tectores, además es muy ramificado. Las hojas son simples, opuestas, decusadas, pecioladas, cordiformes, penninervias, dentadas, asimétricas en la base, pubescentes en el haz y en el envés (pelos glandulosos y tectores). Las inflorescencias son racimosas, constituidas por racimos terminales y axilares en las cuales las flores se ubican en grupos de 3 o 4 en forma opuesta y verticiladas. Las flores son pentámeras, tubulosas, homoclamídeas, zigomorfas, pedunculadas, bilabiadas y hermafroditas. El cáliz es pentámero, gamopétala, bilabiada, de color azul o blanco, constituida por 5 pétalos concrescentes de los cuales 3 forman el labio inferior y 2 el labio superior, externamente pubescente.

El androceo está constituido por 2 estambres concrescentes por sus filamentos el labio inferior en su parte central e interna. En cada estambre sus conectivos se han desarrollado llevando hacia la parte superior de la corola una teca fértil de cada uno y hacia la parte interna las otras 2 tecas infértiles y concrescentes formando el sistema de palanca que facilita la polinización entomógama.

El gineceo es completo de ovario súpero, sentado sobre un rodete nectarífero que tiene una glándula nectárea desarrollada a un extremo, tetracarpelar, tetralocular, tetraovular.

Estilo ginoblástico, desarrollado, pubescente y azulado en la parte superior, divide al ovario en 4 mericarpos o folículos, cada uno de los cuales alberga un óvulo anátropo de la placentación basal. Estigma bifido y azulado. El fruto del folículo constituido por 4 mericarpos. <sup>(16)</sup>

#### **2.2.1.2.4 Usos y Aplicaciones de la especie *Minthostachys mollis*:**

La muña es conocida por la gente del pueblo por sus propiedades digestiva contra cólicos, flatulencias (carminativo), vómitos, diarreas, antitusígenas, antiasmático, <sup>(56,58)</sup> expectorante, <sup>(16)</sup> antiespasmódico, antiséptico, analgésico, antiinflamatorio, febrífugas, en tratamiento de tumores y mezclándola con chilca se emplea en fracturas. <sup>(57)</sup> Es excelente contra la halitosis <sup>(59)</sup> y para combatir jaquecas y soroche. <sup>(58)</sup>

Además es utilizada como condimento para preparar platos típicos. <sup>(58)</sup> En el campo agrícola se emplea para la preservación de algunos productos como la papa, del ataque de insectos. <sup>(22,56,59)</sup> A manera de fumigante orgánico vegetal contra el gorgojo de los andes y *Norimoschema* <sup>(14)</sup> y como antimoho. En el campo pecuario es utilizado para controlar los ectoparásitos y endoparásitos de los animales domésticos, además para curar sarna en equinos y camélidos. <sup>(58)</sup> En otras zonas de Latinoamérica, principalmente en Argentina, se le emplea para aromatizar y fabricar licores y bebidas. <sup>(10)</sup>

La composición de la muña es: aceite esencial, glicósidos, mucílagos, saponinas, taninos, alcaloides y esteroides. <sup>(56)</sup> Además contiene carbohidratos, calcio, fósforo, hierro, trazas de vitamina B1, esencias y mentol. <sup>(59)</sup>

### 2.2.2 Clorhexidina

El digluconato de clorhexidina es un antiséptico, una sal muy soluble en agua de afinidad por las proteínas ácidas presentes en la película adquirida, la placa, el cálculo, las bacterias y la mucosa bucal. <sup>(60)</sup> Tiene un amplio espectro de afinidad por las bacterias grampositivas y gramnegativas, en especial eficaz frente a *Streptococos* del grupo *mutans*, *Streptococos salivarius*, *Selenomonas spp.* ; sin embargo su acción sobre los hongos es relativa y no es esporicida ni viricida ni actúa sobre bacterias ácido-alcohol resistentes. <sup>(61)</sup> Hankook y col. <sup>(62)</sup> la consideran como antimicrobiano que incluye esporas.

Su acción antimicrobiana se debe a que al ser atraídos estos a la molécula de clorhexidina, ésta mediante sus cargas electropositivas modifica el funcionamiento normal de la membrana citoplasmática, altera su permeabilidad y provoca la lisis celular, de esta manera se eliminan las acumulaciones bacterianas.

Se utiliza para el control de la placa bacteriana y como enjuague de las mucosas al 0,2 % y al 0,12 %. Los colutorios con 10 ml. de clorhexidina al 2 % durante un minuto permiten que el 30 % de la droga permanezca en la boca unida a la placa bacteriana, a la hidroxiapatita y a la saliva. A medida que pasa el tiempo la droga se libera lentamente en forma activa y a las 12 ó 24 horas aún se detectan niveles bacteriostáticos en la boca. <sup>(60)</sup> Existe también el

gluconato de clorhexidina al 0,12 % el cual confiere una reducción bacteriana por un tiempo de una hora. El paciente debe realizar este enjuagatorio o buche, que producirá una reducción prolongada de la carga bacteriana. <sup>(63)</sup>

La clorhexidina al 0,12 % con cloruro de cetilpiridinio al 0,5 % libre d alcohol según el estudio de Herrera y col. <sup>(8)</sup> tiene una efectividad antimicrobiana superior a otras formulaciones de clorhexidina, incluso superior a las fórmulas que contienen alcohol <sup>(64)</sup>, los cuales de acuerdo a Eldrige <sup>(17)</sup> presentan efectos adversos.

### **2.2.3 ECOLOGÍA DE LA BOCA**

#### **2.2.3.1 Generalidades**

La boca alberga innumerables microorganismos en un ecosistema de complejidad considerable que aún no ha sido estudiado en su totalidad y está lejos de ser comprendido en toda su magnitud. Hasta hace muy poco, la boca se consideraba como un hábitat simple para los microorganismos, pero en la actualidad se reconoce que los dientes, surco gingival, la lengua otras superficies mucosas y la saliva, todos forman hábitats o sitios diferentes donde los microorganismos se multiplican. Cada zona o hábitat contiene su propia población característica, a menudo con muchas especies microbianas distintas, las cuales pueden complementarse o competir con otras en la misma población, por tanto la flora bucal es una entidad dinámica afectada por numerosos cambios durante la vida del huésped. <sup>(65)</sup>

#### **2.2.3.2.1 Desarrollo de la flora bucal**

Por lo general, la boca del feto a término es estéril, aunque al nacimiento puede adquirir microorganismos transitorios a partir de la vagina. La boca del niño recién nacido adquiere microorganismos con rapidez, de la madre y también del ambiente. Pueden aislarse varias especies de estreptococos y estafilococos, junto con coliformes, lactobacilos, especies *Bacilos*, especies *Neisseria* y levaduras. La selectividad de la boca como un entorno se demuestra aún en este momento, ya que la mayor parte de los microorganismos introducidos no pueden establecerse. La especie más común que se aísla de la boca de los recién nacidos, es el *Streptococcus salivarius*, y junto con el *Staphylococcus albus*, *Neisseria* y *Veillonella*, forman el conglomerado inicial. En otras ocasiones, *Candida albicans* se multiplica con rapidez en la boca y el pH bajo que se produce impide el crecimiento normal de otros comensales. Una proliferación excesiva de levaduras produce lo que se conoce como “afta bucal”.

#### **2.2.3.2.2 Infancia y niñez**

El lactante se pone en contacto con una variedad siempre creciente de microorganismos, algunos de los cuales se establecerán como parte de la flora común del individuo. Los microorganismos comensales de otras partes del cuerpo y los del ambiente, pueden existir también en la cavidad bucal y otros se quedarán ahí. La erupción de los dientes temporales proporciona una superficie diferente para la adherencia microbiana y esto se caracteriza con la aparición del *Streptococcus sanguis* y *Streptococcus mutans* como habitantes regulares de la cavidad bucal. Con el aumento en el número de dientes y los

cambios en la alimentación se modificarán las proporciones globales de los microorganismos. Unos cuantos anaerobios llegan a establecer pero como el surco gingival no es profundo, su número permanece pequeño. Habitualmente se encuentran actinomicetos, *Lactobacillus* y *Rothia*.<sup>(65)</sup>

#### **2.2.3.2.3 Adolescencia**

Quizás el incremento mayor en el número de microorganismos en la boca se produce cuando hacen erupción los dientes permanentes. Estos tienen fisuras profundas en su superficie lo que hace que sean difíciles de desalojar. Los espacios interproximales son mucho mayores que en la dentición temporal pues los dientes tienen un “cuello” más pronunciado en la unión amelocementaria. El surco gingival es más profundo que en los dientes temporales y permite un incremento mayor en los microorganismos anaerobios. La especie *Prevotella* queda fijada en cantidad abundante, así como las especies *Leptotrichia* y *Fusobacterium* y las espiroquetas. Las lesiones de la caries dental crearán un ambiente nuevo en el cual surgirán algunos microorganismos, en especial, estreptococos. En términos ecológicos la flora del final de la adolescencia y el principio de la edad adulta, antes de la pérdida de los dientes, es el clímax del conglomerado microbiano.<sup>(65)</sup>

#### **2.2.3.2.4 Edad Adulta**

Se considera que la complejidad de la flora bucal del adulto es quizás su característica principal. Puede haber cantidades variables de placa dental y el grado de enfermedad periodontal crónica estará en relación al número y tipos

de microorganismos encontrados. Las lesiones cariosas y las restauraciones poco satisfactorias propiciarán ambientes para acumulaciones locales de bacterias. La mayoría de estudios de la flora bucal del adulto, muestran que existen variaciones considerables entre los individuos, en el número total de bacterias y en las proporciones de muchas de las especies; de hecho puede haber variación en un mismo individuo si se toman muestras en diferentes momentos.

De acuerdo con las tendencias observadas en el adolescente hay un incremento en la especie *Prevotella* y las espiroquetas con el avance de la enfermedad periodontal y la madurez de la placa dental. La placa superficial contiene pocos estreptococos, principalmente *Streptococcus mutans* y *sanguis*. También se aíslan con regularidad actinomicetos y otros filamentos grampositivos y gramnegativos de posición taxonómica incierta. Conforme los dientes se pierden, el número de sitios disponible para la colonización bacteriana disminuye; se reduce la cantidad de bacterias y varias especies disminuyen en cantidades desproporcionadas. Los individuos edéntulos albergan pocas espiroquetas y prevotellas, pero aumenta el número de levaduras. Normalmente las levaduras se ubican en el dorso de la lengua y en el surco bucal superior. Las dentaduras postizas proporcionan un medio protegido en el cual las levaduras pueden multiplicarse y cubrir el paladar duro y la superficie acrílica de la prótesis dental.

### **2.2.3.3 Factores que alteran el desarrollo de la flora bucal**

Para que un microorganismo se establezca en la boca, debe 1) introducirse, 2) ser retenido, 3) ser capaz de multiplicarse en las condiciones existentes en la boca.

#### **2.2.3.3.1. Introducción**

Aunque desde el nacimiento se introducen en la boca una extensa variedad de microorganismos, solo ciertas especies son capaces de establecerse en ella. Muchos de estos microorganismos tienden a ubicarse en sitios particulares como labios, dorso de la lengua, paladar duro, otros tejidos blandos, surco gingival o dientes.

#### **2.2.3.3.2 Retención**

La retención de los microorganismos, por lo general, está confinada a un sitio particular en la boca, probablemente como consecuencia de la interacción, a menudo compleja de los mecanismos de retención y desprendimiento.

#### **2.2.3.3.3 Adherencia**

Algunas bacterias tienen la habilidad de adherirse a los tejidos blandos; *Streptococcus salivarius* puede adherirse a la superficie del dorso de la lengua y también a otros tejidos blandos. Otros, en particular *Streptococcus mutans* y *sanguis*, se adhieren al esmalte debido a la producción de polisacárido extracelular por la bacteria. Es posible que algunos actinomicetos bucales se adhieran por medio de un mecanismo hialurónico mediado por ácidos. Otras bacterias pueden pegarse simplemente a la matriz celular producida por otros.



Las bacterias que se adhieren débilmente como la especie *Veillonella* se alojan en defectos del esmalte, fisuras oclusales y fóselas donde se protegen de las fuerzas de desprendimiento.

#### **2.2.3.3.4 Sitios protegidos**

Además de lo anterior, la matriz adherente de la placa dental proporcionará un ambiente protegido para las bacterias que no poseen mecanismo alguno de adherencia. No obstante, el sitio protegido de mayor tamaño es el surco gingival, donde especies como *Prevotella melaninogenica* y las espiroquetas, pueden sobrevivir.

#### **2.2.3.3.5 Fuerzas de desprendimiento**

Estas incluyen el flujo salival, el movimiento de la lengua y de los tejidos blandos y la acción abrasiva de los alimentos. La circulación del líquido del surco gingival y la fagocitosis en el surco también sirven para eliminar bacterias.

#### **2.2.3.3.6 Multiplicación**

Para permanecer como parte de la flora bucal, un microorganismo debe ser capaz de multiplicarse en el sitio particular en que puede ser retenido. Este fenómeno depende de cierto número de factores.

- **Disponibilidad de sustratos**

Para que las bacterias puedan proliferar, deben ser capaces de metabolizar los sustratos disponibles de la dieta o en los productos metabólicos de otros microorganismos que están en el mismo sitio o en uno próximo. El consumo abundante de carbohidratos en la alimentación tiene probablemente los efectos más importantes en el número creciente de bacterias bucales, en particular estreptococos

- **pH:**

El metabolismo de los microorganismos depende con frecuencia del pH y las bacterias inhibidas por el bajo pH no pueden sobrevivir en las condiciones ácidas de la placa dental o bajo la base de una dentadura postiza. *Prevotella melaninogenica* y la especie *Veillonella* no toleran un pH menor de 5,5 aproximadamente pero la especie *Lactobacillus* y *Candida albicans* pueden tolerar proporciones muy bajas de pH.

- **Oxidación o reducción en el medio circundante**

El potencial de oxidación reducción (.Eh) del sitio es con frecuencia importante para determinar la naturaleza de la flora en ese lugar. Los microorganismos anaerobios como, prevotelas, fusobacterias, espiroquetas y algunos actinomicetos sólo se desarrollarán en ambientes reductores. Los requerimientos para la reducción son variados; actinomicetos, la especie *Capnocytophaga* y la especie *Campylobacter* toleran un ambiente con menor reducción que el exigido por la especie *Prevotella*, las fusobacterias y en especial las espiroquetas. Un potencial bajo de oxidación-reducción sólo puede lograrse con facilidad en el surco gingival y en la capa más

profunda de la placa dental. De aquí se infiere la explicación del porqué las bacterias anaerobias están confinadas a esos sitios.

#### - **Interacciones microbianas**

La complejidad de las comunidades de microorganismos es el resultado de un sinnúmero de interacciones microbianas. Algunas son nutricionales como proveer ácido paraaminobenzoico, el *Streptococcus sanguis* para el *Streptococcus mutans* en ambiente reductor; el aporte de vitamina K por varios microorganismos para *Prevotella melaninogenicus* que a su vez produce sustrato para el *Campylobacter sputorum*. Las espiroquetas dependen de varios factores producidas por otras tantas bacterias, lo que quizá indica porqué estos microorganismos sólo pueden establecerse en los surcos gingivales después de que el resto de la flora normal se ha desarrollado. Algunas interacciones son más nocivas que benéficas para una especie secundaria; por ejemplo, la producción de peróxido de hidrógeno por *Streptococcus sanguis* inhibe a otros muchos estreptococos y anaerobios. Las sustancias inhibidoras denominadas bacteriocinas, que actúan sobre diferentes cepas de la misma especie o de especies relacionadas, se han observado entre los estreptococos bucales y la especie *Prevotella*. La inhibición de un microorganismo por otro, puede dar como resultado un sitio vacante adyacente que puede ser colonizado por el primer microorganismo que puede proliferar. La competencia por ocupar todos los sitios disponibles en la boca confiere a la flora normal su naturaleza dinámica pero también beneficia al huésped al ayudarlo a impedir el establecimiento de un patógeno cualquiera que intente introducirse.

#### 2.2.3.4 Flora Microbiana en la Cavidad Oral

##### Labios

En los labios hay una transición de piel a mucosa bucal y existen también cambios en la población bacteriana. Predominan el *Staphylococcus albus* y los micrococos cutáneos con cantidades abundantes de estreptococos típicos de la boca. Si las comisuras de la boca se humedecen con la saliva, puede desarrollarse una queilitis angular de cuyo raspado es posible cultivar *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*

##### Mejilla

Los resultados de los estudios varían unos de otros, pero la bacteria predominante en la parte interior de la mejilla es el *Streptococcus miliar* y le siguen en frecuencia *Streptococcus sanguis* y *Streptococcus salivarius*. Es posible aislar levaduras de los portadores y otros microorganismos presentes en la saliva deberán ser lavados de la superficie de la mejilla, pueden además, ser retenidos por algún tiempo, por ejemplo *Haemophilus influenzae*, y la especie *Neisseria*.

##### Paladar

El paladar duro presenta una flora estreptocócica semejante a la de la mejilla. Los hemófilos se encuentran con regularidad y los lactobacilos son comunes. Los escasos anaerobios encontrados sobre membranas expuestas es casi seguro que no proliferen. Las levaduras y lactobacilos aumentarán en forma muy importante en algunas personas que utilizan dentaduras postizas y la flora

puede alterarse mucho cuando el paladar es protegido de la acción de lengua y la saliva por la base de una prótesis. El paladar blando albergará bacterias de las vías respiratorias como *Haemophilus*, *Corynebacterium*, *Neisseria* y *Branhamella*. Los portadores de Streptococcus B-hemolíticos con frecuencia tendrán los microorganismos en la úvula y en los pliegues palatogloso y palatofaríngeo.

## **Lengua**

La superficie dorsal queratinizada de la lengua es un sitio ideal para la retención de microorganismos. Aunque varía el número de *Streptococcus salivarius* es el microorganismo predominante y representa el 20-50 % de la flora cultivable total. *Streptococcus mitis* también es común y la especie *Haemophilus* ha sido aislada con regularidad. El dorso de la lengua es colonizado a menudo con cantidades pequeñas de *Candida albicans*. El *Micrococcus mucilagenous* es un microorganismo raro que semeja un estafilococo pero produce una sustancia mucosa extracelular que puede explicar su retención sobre la lengua. El microorganismo representa 3-4 % de la flora cultivable en la mayoría de los individuos y se aísla únicamente del dorso de la lengua.

## **Surco gingival**

La población bacteriana del surco gingival es quizás la más numerosa en toda la boca, con  $10^{10}$ - $10^{11}$  microorganismos por gramo de peso húmedo de detritus gingivales. Se han hecho innumerables estudios de esta estructura muy relacionados con trabajos acerca de la placa dental, supra o subgingival. El

surco gingival tiene una relativa protección de las fuerzas que desalojan a las bacterias; no obstante, el líquido crevicular en el surco proporciona un medio rico en nutrientes que permite que proliferen algunos de los microorganismos más delicados.

El número exacto y las proporciones de los diversos microorganismos presentes en el surco gingival varían con las diferentes muestras y técnicas de cultivo. <sup>(67)</sup>

## **Dientes**

Todos los dientes tienen microorganismos adheridos, usualmente en depósitos denominados placa dental. Las fuerzas para desalojar bacterias, tales como los alimentos, la saliva y los tejidos blandos, tienden a remover esta placa de las superficies lisas del esmalte, o bien, de áreas linguales palatinas y bucales. Estos depósitos bacterianos se forman finalmente como sigue:

En las fisuras y fóselas oclusales.

En defectos del esmalte.

En los espacios interproximales.

Cerca del borde gingival.

La cuenta viable de la placa dental sólo representa una proporción de la cuenta total. La variación en la composición de la placa es amplia, pero los estreptococos bucales, los bacilos, filamentos grampositivos y algunos anaerobios gramnegativos siempre están presentes.

## Saliva

Los microorganismos que se denominan como parte de la flora de la saliva son los que se han desprendido de los diversos sitios de la cavidad bucal en donde se han asentado poblaciones bacterianas (piezas dentarias, lengua, mucosa de los carrillos y membranas mucosas de la faringe).<sup>(66)</sup> La saliva del ser humano tiene aproximadamente 6000 millones ( $6 \times 10^9$ ) de bacterias por mililitro, entre las cuales están *estreptococos*, *peptostreptococos*, *Veillonella*, *Corynebacterium*, *Neisseria*, *Nocardia*, *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Lactobacillus*, *Actinomyces*, espiroquetas, levaduras, protozoarios y otros. Aunque se han realizado muchos estudios relacionados con la flora bucal utilizando la saliva como substitutivo de la placa dentaria, las muestras de saliva no deben usarse para decidir los tipos y cantidades de bacterias de cada territorio de la cavidad bucal.<sup>(67)</sup>

Las investigaciones realizadas para conocer la posible fuente de bacterias en la saliva indican que *S. salivarius* comprende 47 % de los estreptococos facultativos presentes en la saliva, 21 a 55 % de los estreptococos facultativos de la lengua y 10 % de los estreptococos facultativos de la mucosa de carrillos. Esa bacteria constituye menos de 1 % de los estreptococos facultativos en la placa y en los surcos gingivales. No se considera que la placa dentaria sea una fuente de *S. salivarius* que se recupera de la saliva. Aunque se supone que *S. sanguis* es el estreptococo dominante de la placa dentaria recién formada en las piezas dentarias, constituye sólo una insignificante porción de la flora de otros sitios de la cavidad bucal. Por tanto, la placa dentaria no es el contribuyente más importante de la flora de la saliva.<sup>(67)</sup>

Para saber si el material de los surcos gingivales puede ser la fuente de las bacterias de la saliva, el estudio de *Prevotella melaninogenica* B. *melaninogenica* muestra que este microorganismo representa 5 % o menos, del total de bacterias cultivables obtenidas de surcos gingivales; esto significa menos del 1 % de los aislamientos de la placa, carrillo, lengua y también menos del 1 % de las bacterias de la saliva. Estos datos indican que los surcos gingivales no son la fuente más importante de las bacterias de la saliva. Por tanto, el origen de las bacterias de la saliva parece ser la lengua. <sup>(67)</sup>

#### **2.2.4. Infusión:**

Proceso que consiste en sumergir una hierba o ciertas partes de ella en agua para extraer sus principios activos. Se diferencia de la decocción en que el agua no debe llegar a hervir, como ocurre en ese caso. Sin embargo, a veces se denomina infusión a cualquier bebida preparada con alguna hierba en agua hirviendo, como, por ejemplo, el té.

En farmacología, se usa este término para definir la extracción de los principios solubles en agua de las sustancias orgánicas, a una temperatura mayor que la del medio ambiente y menor que la del agua hirviendo.

En medicina, se define como infusión la introducción de un líquido distinto a la sangre en vena, como, por ejemplo, el suero fisiológico. <sup>(68)</sup>

#### **2.2.5 Sinergismo:**

Se llama así, al aumento de la acción farmacológica de una droga por empleo de otra, esto sucede generalmente cuando se trata de drogas de acción farmacológica similar. El conocimiento y empleo del sinergismo en la clínica



tiene sus ventajas, pues al administrar cada una de las drogas en dosis menores, se evita los efectos adversos de ellas y otras ventajas en base al tiempo de acción. <sup>(69)</sup>

#### **2.2.6. Antagonismo:**

Es la disminución o la anulación de la acción farmacológica de una droga por acción de otra droga que actúa simultáneamente. <sup>(69)</sup>

### 2.3.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Puesto que se ha demostrado por medio de otros estudios científicos que las plantas medicinales poseen propiedades terapéuticas sobre la caries dental y la enfermedad periodontal, que son las enfermedades que más prevalecen en la cavidad oral, realizamos el presente trabajo de investigación con la finalidad de probar las propiedades antibacterianas de una infusión a base de *Camelia sinensis* y *Minthostachys mollis* frente a flora salival mixta. Así, se plantea la siguiente formulación del problema:

¿Existe efectividad antibacteriana in vitro de una infusión a base de *Camellia sinensis* y *Minthostachys mollis* frente a flora salival mixta?

### 2.4.- JUSTIFICACIÓN

La importancia del presente estudio radica en el uso de plantas naturales aplicadas en higiene oral con el fin de comprobar su efectividad antimicrobiana, así mismo basándose en el antecedente de *Camelia sinensis* y *Minthostachys mollis* sobre sus efectos antibacterianos en microbiota oral es que se plantea la preparación de una infusión a base de ambas plantas para ver si actúan sinérgicamente o se inhiben mutuamente.

Al final de este trabajo de investigación se busca poder recomendar una infusión a base de *Camelia sinensis* y *Minthostachys mollis* por presentar un nivel de efecto antibacteriano mayor a una infusión a base de las mismas plantas actuando por separado y con efectividad antimicrobiana mayor o similar a la clorhexidina. De ser así representaría una alternativa más en nuestro

arsenal de higiene oral que tendría un valor económico reducido y que por ser natural ocasionaría poco o ningún daño a nuestro organismo.

## **2.5.- OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN**

### **2.5.1 OBJETIVO GENERAL**

- ✓ Determinar la efectividad antibacteriana in vitro de una infusión a base de *Camelia sinensis* y *Minthostachys mollis* frente a flora salival mixta.

### **2.5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- ✓ Determinar la efectividad antibacteriana in vitro de una infusión al 10 % a base de *Camelia sinensis* frente a flora salival mixta.
- ✓ Determinar la efectividad antibacteriana in vitro de una infusión al 10 % a base de *Minthostachys mollis* frente a flora salival mixta.
- ✓ Determinar la efectividad antibacteriana in vitro de una infusión al 10 % a base de *Camelia sinensis* y *Minthostachys mollis* frente a flora salival mixta.
- ✓ Comparar la efectividad antibacteriana in vitro de las tres soluciones en estudio frente a flora salival mixta.

## **2.6.- HIPÓTESIS**

Existe efectividad antibacteriana in vitro de una infusión a base de *Camellia sinensis* y *Minthostachys mollis* frente a flora salival mixta.

### **III.- MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1.- TIPO DE ESTUDIO**

**1.- Según el tipo de ocurrencia de los hechos y registros de estudio:**

Prospectiva.

**2.- Según el periodo y secuencia de estudio:** Transversal (una sola toma de muestra)

**3.- Según el análisis y alcance de los resultados:** Experimental.

#### **3.2.- POBLACIÓN Y MUESTRA**

La población la conformaron alumnos de la Facultad de Odontología de la UNMSM durante el año 2008.

La muestra la conformaron 30 alumnos de ambos géneros del segundo año de estudios de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos elegidos aleatoriamente y que aceptaron dar el consentimiento informado para participar en el estudio.

##### **3.2.1.- Criterios de Inclusión**

Alumnos de ambos géneros que cursen el segundo año de estudios en la Facultad de Odontología de Universidad Nacional Mayor de San Marcos durante el 2008.

### 3.2.2.- Criterios de Exclusión

Alumnos que presentan enfermedades sistémicas.

### 3.2.3.- Unidad de Muestra:

Muestras de saliva de alumnos de ambos géneros que cursen el segundo año de estudios en la Facultad de Odontología de Universidad Nacional Mayor de San Marcos durante el 2008.

## 3.3.- OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

### Variables independientes:

Infusión natural.

### Variables dependientes

Efectividad antibacteriana.

### VARIABLES INDEPENDIENTES

Variable	Dimensión	Indicador	Escala	Categoría
Infusión natural	Solución de una hierba en agua hervida en una concentración de 10%	Té verde al 10%	Nominal	Presente Ausente
		Muña al 10%	Nominal	Presente Ausente
		Té verde con muña al 10%	Nominal	Presente Ausente

## VARIABLES DEPENDIENTES

Variable	Dimensión	Indicador	Escala	Categoría
<b>Efectividad Antibacteriana</b>	<b>Inhibición en el desarrollo o crecimiento de las bacterias debido a la presencia de los diferentes tipos de infusiones</b>	<b>Presencia del halo de inhibición formado alrededor de los discos conteniendo los diferentes tipos de infusiones</b>	<b>Razón</b>	<b>Milímetros</b>

### 3.4. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.4.1.- PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS

##### **Preparación de las infusiones:**

Para la preparación de las infusiones se pesaron cada uno de los productos a razón de:

Infusión de té verde al 10 %: 10 g de té verde en 100 ml de agua hervida por 3 minutos.

Infusión de muña al 10 % : 10 gr de muña en 100 ml de agua hervida, por 3 minutos.

Infusión de té verde y muña al 10%: 5 g de té verde y 5 gr de muña , por 3 minutos.

Los productos fueron obtenidos de los envasados comercialmente.

#### **Muestras de saliva:**

Las muestras de saliva no estimuladas, fueron colectadas de 30 alumnos de segundo año de la Facultad de Odontología de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos en vasos estériles.

Las muestras se estandarizaron a una concentración de 0,5 de la escala de Mac Farland colocados en tubos de ensayo estériles y se sembraron mediante hisopo estéril en placas de Agar Tripticosa Soya (TSA).

Para la aplicación del método de difusión, los discos elaborados con papel de filtro Whatman nº 3 estériles, fueron embebidos en las soluciones problema:

A = *Camelia sinensis* al 10 %

B = *Minthostachys mollis* al 10 %

C = *Camelia sinensis* y *Minthostachys mollis* al 10 %

Complementariamente se utilizó un disco D con clorhexidina al 0,2 % con cetilpiridinio libre de alcohol, para actuar como control positivo y un disco E con el agua hervida, utilizada para la preparación de las soluciones problema, como control negativo. Los discos fueron colocados con pinzas estériles en las placas y sembrados con las muestras de saliva y se procedió a incubarlas por 24 – 48 horas en aerobiosis por 37° C para su posterior lectura y medición del diámetro de los halos de inhibición incluyendo el disco.

#### **3.4.2.- RECOLECCIÓN DE DATOS**

Ficha de Trabajo de Investigación (Ver Anexo 9.2)

#### IV.- RESULTADOS

**Cuadro 1: Efectividad antibacteriana in vitro de una infusión al 10 % a base de *Camelia sinensis* frente a flora salival mixta.**

Infusión	Media	Desviación típ.
Té verde	15,2667	1,72573
Clorhexidina	14,8500	2,57022

En el Cuadro 1 al aplicar la prueba T se obtuvo un valor p menor de 0.05 (  $p = 0,464$  ), lo que indica que no hubieron diferencias estadísticamente significativas entre la infusión a base de té verde y la clorhexidina.

**Cuadro 2: Efectividad antibacteriana in vitro de una infusión al 10 % a base de *Minthostachys mollis* frente a flora salival mixta.**

Infusión	Media	Desviación típ.
Muña	00,0000	0,00000
Clorhexidina	14,8500	2,57022

En el Cuadro 2 al aplicar la prueba T se obtuvo un valor p menor de 0.05 (  $p = 0,00$  ), lo que indica que hubieron diferencias estadísticamente significativas entre la infusión de muña y la clorhexidina.



**Cuadro 3: Efectividad antibacteriana in vitro de una infusión al 10 % a base de *Camelia sinensis* y *Minthostachys mollis* frente a flora salival mixta.**

Infusión	Media	Desviación típ.
Té verde y muña	12,7000	2,07863
Clorhexidina	14,8500	2,57022

En el Cuadro 3 al aplicar la prueba T se obtuvo un valor p menor de 0.05 (  $p = 0,001$  ), lo que indica que hubieron diferencias estadísticamente significativas entre la infusión a base de té verde y muña y la clorhexidina.

**Cuadro 4: Efectividad antibacteriana in vitro de las tres infusiones en estudio frente a flora salival mixta.**

Infusión	N	Media	Desv. típ.
efectividad té	30	15,2667	1,72573
efectividad muña	30	00,0000	0,00000
efectividad té verde y muña	30	12,7000	2,07863
efectividad clorhexidina	30	14,8500	2,57022
Total	120	14,2722	2,41037

Con respecto al Cuadro 4, al aplicar la prueba ANOVA, se obtuvo un valor p menor de 0.05 (  $p = 0,00$  ), lo que indica que hubieron diferencias estadísticamente significativas entre las infusiones estudio.

## V.- DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos permiten evidenciar el comportamiento antibacteriano de la infusión a base de té verde coincidiendo con los resultados de los estudios in vitro de Moromi H. y col. <sup>(2,3)</sup> en los cuales también trabaja con infusión de dicha planta sobre microflora salival mixta y *Streptococcus mutans* primero estudiando su efecto en la formación de placa y posteriormente comparando cuatro marcas comerciales.

Con respecto a la infusión a base de muña los resultados del presente estudio coinciden con los de Salmón <sup>(19)</sup> quién tampoco encontró halos de inhibición a ninguna concentración. Sin embargo cabe resaltar que en el presente estudio se trabajó la muña como infusión y no como aceite esencial como en los estudios de Díaz K. y col. <sup>(6)</sup>, Contreras <sup>(20)</sup> Inga A. y Guerra B. <sup>(13)</sup>, los cuales si encontraron efectividad. No obstante, no se debería de descartar la efectividad antibacteriana de la muña como infusión y se deberían de realizar estudios posteriores pero a diferentes concentraciones superiores al 10 %.

Además, en el estudio de Diaz K. y col. <sup>(6)</sup>, donde se obtuvieron resultados positivos, se expuso la muña a cepas estándares ATCC *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* sp, *Fusobacterium nucleatum*, *Actinobacillus actinomicetenum* y *Actinomyces* sp, y en el presente estudio se trabajó la muña sobre flora mixta salival por lo cual se podría pensar que algún componente salival o algún componente en específico presente en la misma inhibe la acción antibacteriana de la muña como infusión.

Así, al mezclar ambas infusiones en una sola, se formaron halos de inhibición lo cual comprobó su efectividad antibacteriana sobre la flora salival mixta; sin embargo, se observó una menor efectividad antibacteriana con respecto a la infusión a base de té verde y la clorhexidina existiendo diferencias significativas con respecto a ellas. Así también, se podría haber pensado en encontrar una especie de sinergismo entre el té verde y la muña al combinar ambas infusiones en base a los antecedentes de la acción antibacteriana del aceite esencial de la muña pero sin antecedentes de aceite esencial de té verde lo cual podría ser materia de futuras investigaciones. Esta disminución de efectividad obtenida en todos los casos, concordaría con los resultados negativos de la infusión de muña, lo cual podría indicar la falta de acción antibacteriana en razón de pocos casos de disminución de la infusión al 10 % utilizada, que a su vez podría ser por acción antagónica o simplemente porque la muña al no poseer efectividad antibacteriana actuó como disolvente al disminuir la concentración del té verde.

Así mismo, la infusión a base de té verde resultó ser similar en cuanto a su efectividad antibacteriana con respecto a la clorhexidina al 0,12% con cloruro de cetilpiridinio sin alcohol que según Herrera y col. <sup>(8)</sup> resultó ser el que tenía mayor efectividad antimicrobiana entre los colutorios.

Finalmente, habiendo encontrado una efectividad similar in vitro entre el té verde y la clorhexidina, se recomienda realizar el presente estudio in vivo para corroborar dichos resultados, al igual que Moromi H. y col <sup>(1)</sup>, quién posterior a un trabajo in vitro estudió la efectividad antibacteriana in vivo (como colutorio)

del té verde teniendo como control positivo a la amoxicilina frente a la cual se mostró inferior.

## **VI.- CONCLUSIONES**

1. Los resultados obtenidos permiten comprobar la efectividad antibacteriana de una infusión a base de té verde y muña al 10% pero con efectividad inferior a una infusión a base de té verde y a clorhexidina.
- 2.- La infusión de té verde al 10 %, clorhexidina y, té verde y muña al 10 % presentaron efectividad antibacteriana con diferencia estadísticamente significativa y en el respectivo orden de mayor a menor.
- 3.- La infusión de muña al 10 % al igual que el agua no presentaron efectividad antibacteriana.

## **VII.- RECOMENDACIONES**

- 1.- Se recomienda trabajar con una muestra mayor para que los resultados sean de una mayor significancia estadística.
- 2.- Estudios de sinergismo del té verde con otros tipos de plantas de comprobada efectividad antibacteriana antimicrobiana como infusión.
- 3.- Estudios de acción de sinergismo de aceites esenciales de muña y té verde in vitro con posteriores estudios in vivo para comprobar su eficacia y aplicación futura en el campo de la salud bucal.
- 4.- Estudios de efectividad antibacteriana de la muña como infusión a diferentes concentraciones superiores al 10 %.

## VIII.- BIBLIOGRAFÍA

- 1 Moromi N.H., Martínez C.E., Villavicencio G.J., Burga S.J., Ramos P.D. Efecto antimicrobiano in vitro de la *Camelia sinensis* sobre bacterias orales, *Odontología Sanmarquina* 2007; 10 (1): 18-20
- 2 Moromi N.H., Martinez C.E., Gutiérrez I.M., Ramos P.D., Núñez L.M., Burga S.J. y col. Efecto antimicrobiano in vivo de la infusión de *Camelia sinensis* sobre bacterias orales, *Moromi, Odontología Sanmarquina* 2007; 10(2): 12-14
- 3 Moromi N.H., Martínez C.E. Efecto del té verde en la formación de la placa bacteriana por *Streptococcus mutans*, *Odontología Sanmarquina*, 9 (2), 2006
- 4 Cano P.C. Bonilla R.P., Roque A.M., Ruiz Q.J. Actividad antimicótica in vitro y elucidación estructural del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* “Muña”, *Ciencia e Investigación Facultad de Farmacia y Bioquímica UNMSM* 9(1) 2006
- 5 Hirasawa, M., Takada, K., Otake, S. Inhibition of Acid Production in Dental Plaque Bacteria by Green Tea Catechins. *Caries Research*. 40(3):265-270, May 2006.
- 6 Díaz L.K. y Moromi N.H. Determinación antibacteriana in vitro de *Minthostachys mollis* (Muña) frente a bacterias orales de importancia estomatológica , *Odontología Sanmarquina* 2005; 8(2): 3-5
- 7 Liza B.V., Costa F.M., Araujo T., Chagas K., Costa K. Acción antimicrobiana in vitro de dentríficos conteniendo fitoterápicos. *Avances en Odontoestomatología* 2005; 21-4: 195-201.

- 8 Herrera D., Roldan S., Santa Cruz I., Santos S., Masdevall M., Sanz M. Diferencias en la actividad antimicrobiana de cuatro colutorios en diferentes formulaciones de clorhexidina al 0,12%: un estudio de contacto in vitro y recuentos bacterianos en saliva. *Journal of Clinical Periodontology* 2003; 30: 307-14
- 9 Fuertes R.C., Munguía C.Y. Estudio comparativo del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb “Muña” de tres regiones peruanas por cromatografía de gases y espectrometría de masas. *Ciencia e Investigación Facultad de Farmacia y Bioquímica UNMSM Vol. IV (1).* 2001
- 10 Primo V., Rovera M., Zanon S., Oliva M., Demo M., Daghero J., Sabim L., Determinación de la actividad antibacteriana y antiviral del aceite esencial de *Minthostachys verticillata* (Griseb) Epiing. *Rev. Argent. Microbiol* 2001; 33(2): 133-117.
- 11 Gálvez C., Mendoza R., Capacidad Antibacteriana de Pastas Experimentales Anti-A. *Odontología Sanmarquina Vol. 1 N° 7 Enero - Junio* 2001
- 12 Lahoud S.V., Gutiérrez M.J., Cisneros Z.L. Ventajas Terapéuticas del Uso de la Asociación de Ampicilina con *Uncaria tomentosa* en Pacientes con Procesos Infecciosos Agudos en Cavidad Oral. *Odontología Sanmarquina Vol. 1 N° 8 Julio – Diciembre* 2001
- 13 Inga B.A., Guerra M.B. Efecto del aceite esencial de *Minthostachys mollis* contra algunas bacterias y hongos de interés en la salud. Tesis para optar el título de químico farmacéutico. Lima 2000; 52-73.



- 14 Lahoud S.V., Gutiérrez M.J., Romero D, Ortiz E. Análisis Histológico del Recubrimiento Pulpar Directo con pasta a base de *Uncaria tomentosa* (Uña de Gato). *Odontología Sanmarquina* Vol. 1 N° 5 Enero - Junio 2000.
- 15 Fuertes R.C., Roque A.M., Sosa T.C., Trujillo P.N. Constituyentes del aceite esencial de *Ocimum micranthum* W. y estudio comparativo, *Ciencia e Investigación Facultad de Farmacia y Bioquímica, UNMSM*, Vol. 2 Junio 1999 N° 1
- 16 Poblete E. Plantas medicinales en Bolivia, farmacopea. Calla waya, 2da edición. Editorial los amigos del libro. La Paz 1998:8.
- 17 Eldrige K, Finnie S, Sthepens J, Mauad A, Munoz C, Kettering J, Efficacy of an alcohol – free chlorhexidine mouthrinse as an antimicrobial agent. *The Journal of Prosthetic DEntistry*, 1998; 80: 685-690.
- 18 Rasheed A, Haider M. Antibacterial activity of *Camellia sinensis* extracts against dental caries. *Arch Pharm Res*. 1998 Jun;21(3):348-52.
- 19 Salmon L., Contribución al estudio de la especie vegetal (*Minthostachys mollis*) Kunt Griseb, (Muña) en los aspectos fitoquímico, toxicológico, antimicrobiano y bromatológico., 1994; 5-15.
- 20 Contreras G. Actividad antimicrobiana del Aceite Esencial de *Minthostachys mollis* (muña) frente a bacterias enteropatógenas. Tesis para optar el título de biólogo UNALM. Lima 1983; 52-73.
- 21 Siani A.C., Franco A.L., de Sousa M.C., Oliveira M., de Sousa. Óleos esseciais / Potencial antiinflamatório. *Biotecnología Ciencia y Desenvolvimento* 1998, 16: 1-11.

- 22 Bardales A., Yarlequé M., Rueda L., Estudio biológico y Fitoquímico del extracto alcohólico de *Minthostachys mollis* “Muña”. En Resúmenes de Trabajos de Investigación del I Congreso Internacional de Biología – VII Symposium de Educación en Ciencias Biológicas, Lima, Perú. 1999
- 23 Maldonado A., Cariddi L., Demo M., Calvo D. Propiedades Inmunológicas y Antimicrobianas de decocciones de *Minthostachys verticillata*. Disponible en <http://www.saic.org.ar/revista/resumenes/401-476.doc>, 8 de Octubre del 2008.
- 24 Costa L.M., Gouveia S.T., Nobrega J.A.: Comparison of heating extraction procedures for Al, Ca, Mg and Mn in tea samples. *Ann Sci*18 :313 –318,2002 .
- 25 Rietveld A., Wiseman S.: Antioxidant effects of tea: Evidence from human clinical trials. *J Nutr*133 :3275 –3284,2003 .
- 26 Carmen C., PhD, Reyes A., PhD y Rafael G., PhD , Beneficial Effects of Green Tea—A Review, 2006, *Journal of the American College of Nutrition*, Vol. 25, No. 2, 79-99 Published by the American College of Nutrition. Departamento de Nutrición y Bromatología, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada, Granada, SPAIN.
- 27 Patricia P.A., 2007, *Té, Camelia sinensis. Análisis de la cadena alimentaria*. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos Subsecretaría de Política Agropecuaria y Alimentos Dirección Nacional de Alimentos.
- 28 Higdon J.V., Frei B.: Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism, and antioxidant functions. *Crit Rev Food Sci Nutr*43 :89 –143,2003 .[Medline]
- 29 McKay D.L., Blumberg J.B.: The role of tea in human health: An update. *J Am Coll Nutr*21 :1 –13,2002

- 30 Varnam A.H., Sutherland J.P.: "Beverages: Technology, Chemistry and Microbiology." London: Chapman & Hall,1994 .
- 31 Wu C.D., Wei G.X.: Tea as a functional food for oral health. *Nutrition*18 :443 –444,2002 .
- 32 Bruneton J.: "Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes Médicinales." Paris: Technique et Documentation-Lavoisier,2001 .
- 33 Xie M., Von Bohlen A., Klockenkämper R., Jian X., Günther K.: Multielement analysis of Chinese tea (*Camellia sinensis*) by total-reflection X-ray fluorescence. *Z Lebensm Unters For*207 :31 –38,1998 .
- 34 Feng Q., Kumagai T., Torii Y., Nakamura Y., Osawa T., Uchida K.: Anticarcinogenic antioxidants as inhibitors against intracellular oxidative stress. *Free Radic Res*35 :779 –788,2001
- 35 Pan T.H., Jankovic J., Le W.D.: Potential therapeutic properties of green tea polyphenols in Parkinson's disease. *Drugs Aging*20 :711 –721,2003 .
- 36 Skrzydlewska E., Augustyniak A., Ostrowska J., Luczaj W., Tarasiuk E.: Green tea protection against aging-induced oxidative stress. *Free Radic Biol Med*33 :555 ,2002a .
- 37 Frei B., Higdon J.V.: Antioxidant activity of tea polyphenols *in vivo*: Evidence from animal studies. *J Nutr*133 :3275 –3284,2003 .
- 38 Lambert J.D., Yang C.S.: Mechanisms of cancer prevention by tea constituents. *J Nutr*133 :3262 –3267,2003 .
- 39 D'Alessandro T., Prasain J., Benton M.R., Botting N., Moore R., Darley-Usmar V., Patel R., Barnes S.: Polyphenols, inflammatory response, and cancer prevention: Chlorination of isoflavones by human neutrophils. *J Nutr*133 :3773 –3777,2003 .

- 40 Yamamoto T., Lewis J., Wataha J., Dickinson D., Singh B., Bollag W.B., Ueta E., Osaki T., Athar M., Schuster G. & Hsu S.: Roles of catalase and hydrogen peroxide in green tea polyphenol-induced chemopreventive effects. *J Pharmacol Exp Ther* 308 :317 –323,2004.
- 41 Hoshiyama Y., Kawaguchi T., Miura Y., Mizou T., Tokui N., Yatsuya H., Sakata K., Kondo T., Kikuchi S., Toyoshima H., Hayakawa N., Tamakoshi A., Ohno Y., Yoshimura T.: A nested case-control study of stomach cancer in relation to green tea consumption in Japan. *Br J Cancer* 90 :135 –138,2004 .
- 42 Negishi H., Xu J.W., Ikeda K., Njelekela M., Nara Y., Yamori Y.: Black and green tea polyphenols attenuate blood pressure increases in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *J Nutr* 134 :38 –42,2004.
- 43 Yang Y.C., Lu F.H., Wu J.S., Wu C.H., Chang C.J.: The protective effect of habitual tea consumption on hypertension. *Arch Intern Med* 164 :1534 –1540,2004
- 44 Lee M.J., Lambert J.D., Prabhu S., Meng X.F., Lu H., Maliakal P., Ho C.T., Yang C.S.: Delivery of tea polyphenols to the oral cavity by green tea lavers and black tea extract. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 13 :132 –137,2004
- 45 Dulloo A.G., Seydoux J., Girardier L., Chantre P., Vandermander J.: Green tea and thermogenesis: interactions between catechin-polyphenols, caffeine and sympathetic activity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 24 :252 –258,2000 .
- 46 Anderson R.A., Polansky M.M.: Tea enhances insulin activity. *J Agric Food Chem* 50 :7182 –7186,2002.

- 47 Wu L.Y., Juan C.C., Hsu Y.P., Hwang L.S.: Effect of tea green supplementation on insulin sensitivity in Sprague-Dawley rats. J Agric Food Chem52 :643 –648,2004 .
- 48 Elvin-Lewis M., Vitale M.K., Opjas T.: Anticariogenic potential of commercial teas. J Prosther Dent6 :273 –276,1980 .
- 49 Mitscher L.A., Jung M., Shankel D.: Chemoprotection: a review of the potential therapeutic antioxidant properties of green tea (*Camellia sinensis*) and certain of its constituents. Med Res Rev17 :327 –332,1997.
- 50 Linke H.B., LeGeros R.Z.: Black tea extract and dental caries formation in hamsters. Int J Food Sci Nutr54 :89 –95,2003.
- 51 Otake S., Makimura M., Kuroki T.: Anticaries effects of polyphenolic compounds from Japanese green tea. Caries Res25 :438 –442,1991.
- 52 Okamoto M., Sugimoto A., Legun K.P., Nakayama K., Kamaguchi A., Maeda N.: Inhibitory effect of green tea catechins on cysteine proteinases in *Porphyromonas gingivalis*. Oral Microbiol Immunol19 :118 –120,2004.
- 53 Zhang J., Kashket S.: Inhibition of salivary amylase by black and green teas and their effects on the intraoral hydrolysis of starch. Caries Res32 :233 –236,1998.
- 54 Simpson A., Shaw L., Smith A.J.: The bio-availability of fluoride from black tea. J Dent29 :15 –21,2001 .
- 55 Lee M.J., Lambert J.D., Prabhu S., Meng X.F., Lu H., Maliakal P., Ho C.T., Yang C.S.: Delivery of tea polyphenols to the oral cavity by green tea lavelis and black tea extract. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev13 :132 –137,2004

- 56 Sotta N. Plantas aromáticas y medicinales de la región Arequipa, Editorial Akuarella 2000: 99-100.
- 57 Palacios J., Plantas medicinales nativas del Perú,: 2da ed. Lima, Ed. CONCYTEC.1997 : 180-182
- 58 Munguia C.Y. Estudio comparativo del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb “Muña” de 3 regiones peruanas por GC-MS. Lima Perú 2000.
- 59 Agencia de Cooperación Técnica del Perú (ACT) del Instituto Interamericano de cooperación para la Agricultura (IICA). Plantas medicinales en atención primaria de salud, agroindustria, fitoquímica y ecoturismo: Perspectivas de desarrollo en la región Los Libertadores Wari (curso regional) : 1999, 237, 246
- 60 Negroni M. Microbiología Estomatológica. 1ª Edición, Argentina, Ed. Panamericana 1999, pág. 97, 239-240, 277-278.
- 61 Liébana U.J. Microbiología Oral., 2ª Edición, España, Ed. Mac Graw Hill, 2002, pág 274, 554, 570.
- 62 Hancock E., Newell D., Antimicrobianos en la Práctica Periodontal. Rev. Clínicas Odontológicas de Norteamérica. México, 1994, Vol. 4 (9); 702-703.
- 63 Jáuregui R. Manual de Microbiología Bucal. Perú, 1ª Edición Taller Gráfico de la Universidad Inca Garcilazo de la Vega, , 2000, pág. 223.
- 64 Ayala O., Eficacia del enjuagatorio de clorhexidina como coadyuvante en la prevención de complicaciones postoperatorias, en cirugías de terceras molares inferiores. Tesis para optar el título de cirujano dentista, UNMSM, 2007, pág. 22.

- 65 Ross, Philip W.; Holbrook, P.W.; Microbiología bucal y clínica. Primera Edición, México, Editorial Científica PLM, S.A. C.V., 1985.
- 66 Solano O.D., Acción antimicrobiana de extractos acuoso y metanólico de principios activos totales de *Erythroxylum Novogranetense* (Morris) var. *Truxillense* (Rusby) sobre *Streptococcus* de la cavidad bucal. Tesis de bachiller para Químico Farmacéutico U.N.M.S.M., Lima, 1996.
- 67 Nolte, W., Microbiología Odontológica. Cuarta edición, México: Nueva Editorial Interamericana, 1996.
- 68 "Infusión," Enciclopedia Microsoft® Encarta® Online 2008 <http://es.encarta.msn.com> © 1997-2008 Microsoft Corporation. Reservados todos los derechos. 08 de Octubre del 2008
- 69 Rivas B.A., Farmacología Volumen 1. Primera Edición. Lima: Editorial San Marcos; 2000.

## **IX.- ANEXOS**

### **9.1. HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

#### **INFORMACION DEL ESTUDIO Y FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO**

**Título:** Efectividad Antibacteriana In Vitro De Una Infusión A Base De *Camelia Sinensis* Y *Minthostachys Mollis* Sobre Flora Salival Mixta.

**Investigador:** Ney Alberto Paredes Sampén

**Institución:** Facultad de Odontología Universidad Nacional Mayor de San Marcos

La información que se describe a continuación, describe la presente investigación y el papel que usted desempeña como participante de la misma.

#### **Objetivo de la Investigación**

Determinar la efectividad antibacteriana in vitro de una infusión al 10% a base de *Camelia sinensis* y *Minthostachys mollis* frente a flora salival mixta.

#### **Participación en el Estudio**

Recolección de 20 a 40 ml. de muestra salival.

#### **Procedimientos que se seguirán durante la investigación**

Usted será uno de los 30 estudiantes de Odontología de segundo año de la U.N.M.S.M. cuya muestra salival será recolectada en vasos estériles a razón de alrededor de 20 ml y se procesarán dentro de un máximo de 60 minutos subsiguientes en tubos de ensayo estériles hasta obtener la concentración a la escala N° 0,5 de Mac Farland. Después de ello, dichas muestras se sembrarán mediante hisopo estéril en placas de Agar Tripticosa Soya (TSA ).

Luego mediante el método de difusión, en discos de papel filtro, estos serán embebidos en las soluciones problema:



A = *Camelia sinensis* al 10 %

B = *Minthostachys mollis* al 10 %

C = *Camelia sinensis* y *Minthostachys mollis* al 10 %

Complementariamente se utilizará un disco D con clorhexidina al 0,2 % con cetilpiridinio libre de alcohol, para actuar como control positivo y un disco E con la agua hervida, utilizada para conseguir las concentraciones de las soluciones problema, como control negativo.

Los discos serán colocados con pinzas estériles en las placas y se procederá a incubarlas por 24 – 48 horas en aerobiosis por 37°C para su posterior lectura y medición de sus halos de inhibición.

#### **Confidencialidad:**

La ficha de datos en la cual se identifica a usted y el consentimiento informado que firmó serán revisados por el investigador. Los resultados de esta investigación podrán presentarse para su exposición, sin embargo, su identidad no será divulgada en tales presentaciones.

#### **Consentimiento:**

He leído y conversado con el investigador sobre esta hoja de información y formato de consentimiento y entiendo el contenido. Por tanto doy consentimiento voluntario para participar en la investigación.

_____	_____	<b>Fecha:</b> _____
<b>Nombres y Apellidos</b>	<b>Firma</b>	

## 9.2. FICHA DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

### Ficha de Trabajo de Investigación

**Nombre:** \_\_\_\_\_ **Edad:** \_\_\_\_ años

**Sexo:** F \_\_\_\_ M \_\_\_\_ **Fecha de Toma de Muestra:** \_\_\_\_ de Octubre del 2008

Antecedentes patológicos: \_\_\_\_\_

Enfermedad actual: \_\_\_\_\_

### Resultados:

Infusiones	Té verde	Muña	Té verde + Muña	Clorhexidina	Agua destilada
Diámetro en mm. Incluyendo el disco					

### 9.3.- REGISTROS FOTOGRÁFICOS



**Toma de la muestra**



**Materiales de laboratorio a utilizar**



**Té verde y muña debidamente pesados y antes de la preparación de las infusiones**



**Preparaciones de las infusiones al 10 %**





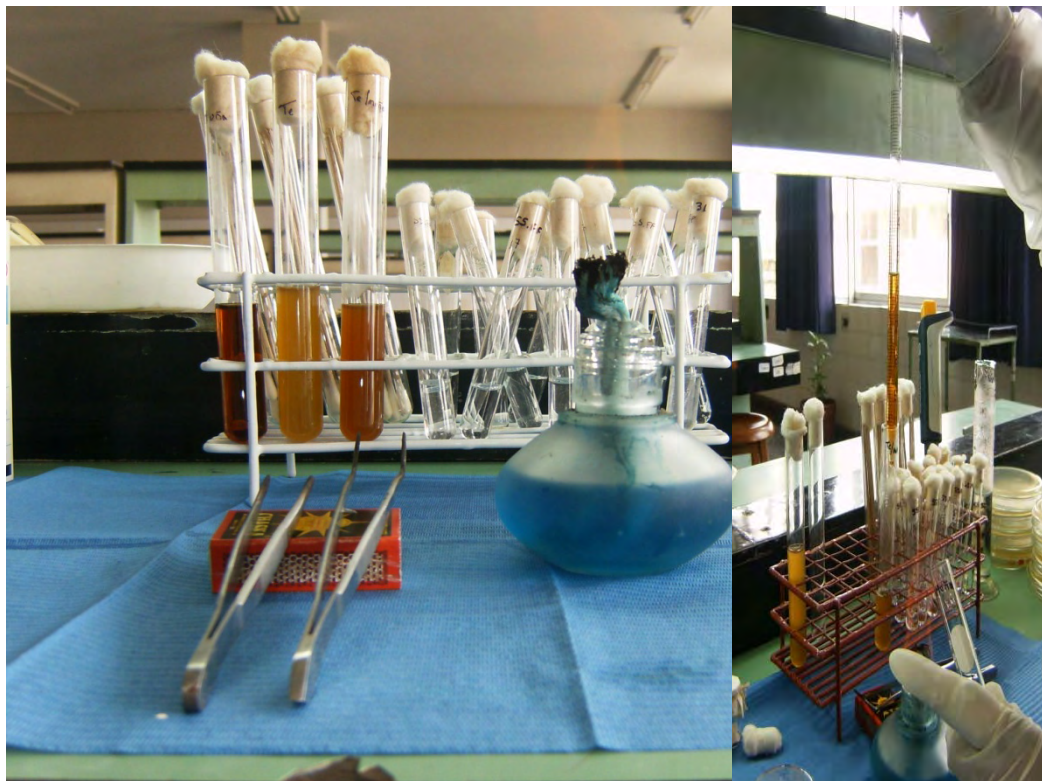
**Filtrado de la infusión de té verde**



**Infusión de té verde al 10% en tubo de ensayo**

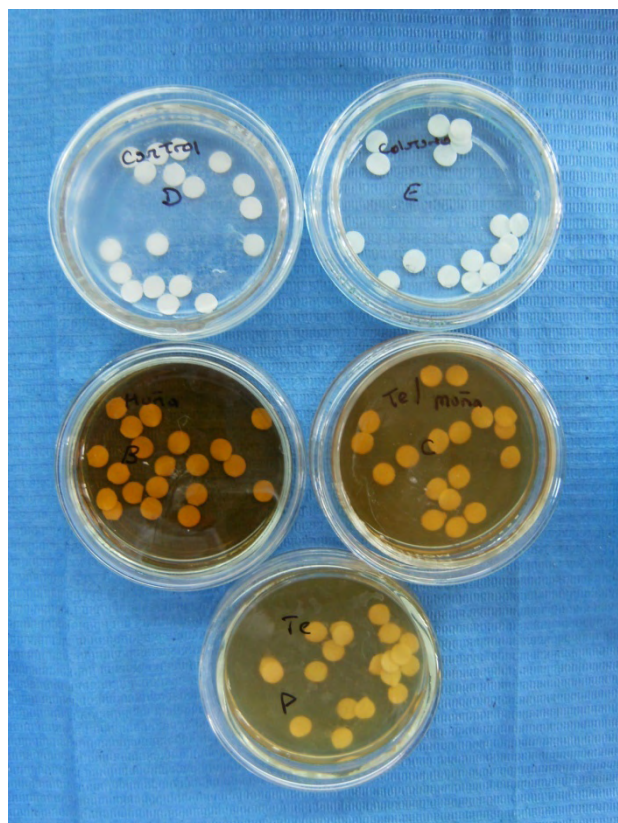


**Infusión de muña al 10% en tubo de ensayo**



**Pipeteado de las infusiones previas para obtener la infusión de té verde y muña al 10%**





**Discos embebidos en placas estériles con las respectivas infusiones estudio y control positivo y negativo**



**Las muestras de saliva se llevaron a concentración de McFarland 0,5 con suero fisiológico con ayuda de una micropipeta**

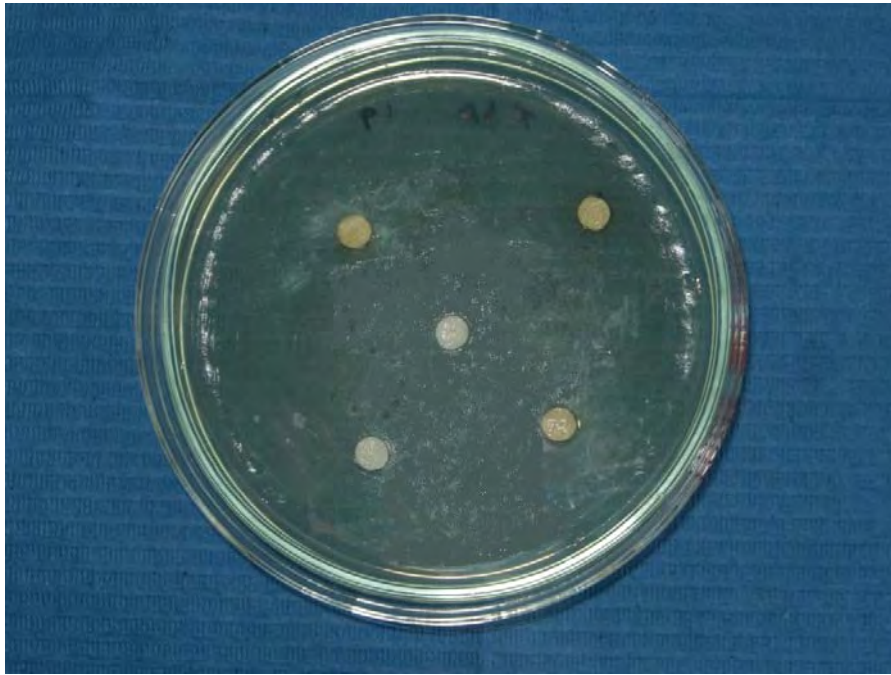


**Siembra de la muestra salival mediante hisopado directo**

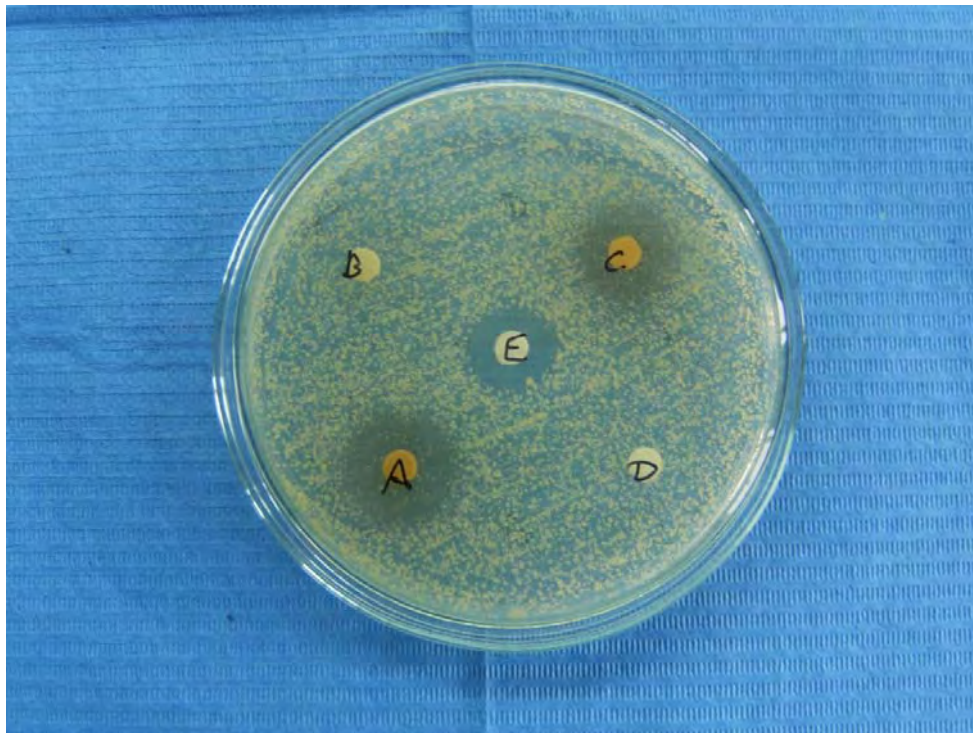


**Asentamiento de los discos de papel filtro sobre la placa TSA**





**Placa de TSA con discos y soluciones en reposo para facilitar su difusión. Luego de colocados los discos en la placa TSA, sembrada con flora mixta salival, se procede a su incubación por 24 horas a 37° C.**



**Resultados: Se observan halos de inhibición sobre los discos A, E y C correspondientes a la infusión de té verde, clorhexidina y, té verde y muña respectivamente determinando así su efectividad antimicrobiana sobre flora salival mixta, lo cual no se observa en los discos B y D , que no presentan ningún halo.**